

CLIPPEDIMAGE= JP02000229871A

PAT-NO: JP02000229871A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 2000229871 A

TITLE: ANTIALLERGIC AGENT, ACTIVATED OXYGEN-DELETING AGENT AND SKIN COSMETIC

PUBN-DATE: August 22, 2000

INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
KISO, AKINORI	N/A
SHIYUU, ENYOU	
YAMAMOTO, SUSUMU	N/A

N/A

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
MARUZEN PHARMACEUT CO LTD	N/A

APPL-NO: JP11070654

APPL-DATE: February 10, 1999

INT-CL\_(IPC): A61K035/78; A61K007/00 ; A61K007/48 ; A61P017/00 ; A61P037/08 ; A61P039/06

ABSTRACT:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an antiallergic agent that has both of the antiallergic action and the activated oxygen deletion action and is suitable as a skin cosmetic constitution component, by extracting the bark of barberry tree with a specific solvent.

SOLUTION: (A) Bark of barberry tree (*Mahonia nepalaulensis*) is crushed and ground, then (B) soaked in one or more kinds of extraction solvents selected from water, methanol, ethanol, 1,3-butylene glycol and propylene glycol in an amount of 5 to 15-fold weight of the bark. They are gently stirred at a temperature from the ambient one to about 100

COPYRIGHT: (C)2000,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-229871

(P2000-229871A)

(43) 公開日 平成12年 8月22日 (2000. 8. 22)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード*(参考)
A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	G 4 C 0 8 3
7/00		7/00	K 4 C 0 8 8
			W
7/48		7/48	
A 6 1 P 17/00		31/00	6 1 7
審査請求 未請求 請求項の数 3 書面 (全 7 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願平11-70654	(71) 出願人	591082421 丸善製薬株式会社 広島県尾道市向東町14703番地の10
(22) 出願日	平成11年 2月10日 (1999. 2. 10)	(72) 発明者	木曾 昭典 広島県尾道市向東町14703-10丸善製薬株式会社内
		(72) 発明者	周 健陽 広島県尾道市向東町14703-10丸善製薬株式会社内
		(74) 代理人	100067426 弁理士 板井 一朗
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 抗アレルギー剤、活性酸素消去剤および皮膚化粧料

(57) 【要約】

【課題】 抗アレルギー作用と活性酸素消去作用を有し皮膚化粧料構成成分としての適性も備えた物質を植物体から見だし、皮膚化粧料のための抗アレルギー剤および活性酸素消去剤として提供する。

【解決手段】 水、メタノール、エタノール、1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコールまたはこれらの混合物を抽出溶媒とする抽出により得られたバーベリ-樹皮の抽出物の活性酸素消去作用および抗アレルギー作用を利用する。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 水、メタノール、エタノール、1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコールまたはこれらの混合物を抽出溶媒とする抽出により得られたバーベリー樹皮の抽出物を有効成分としてなる抗アレルギー剤。

【請求項2】 水、メタノール、エタノール、1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコールまたはこれらの混合物を抽出溶媒とする抽出により得られたバーベリー樹皮の抽出物を有効成分としてなる活性酸素消去剤。

【請求項3】 請求項1記載の抗アレルギー剤または(および)活性酸素消去剤を含有することを特徴とする皮膚化粧料。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、皮膚化粧料に配合するのに適した抗アレルギー剤、活性酸素消去剤、およびこれら皮膚の炎症や老化症状の予防と改善に有効な成分を配合してなる皮膚化粧料に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】皮膚のかぶれ、湿疹、アトピー症など、アレルギーによる皮膚の各種炎症は、体内におけるヒスタミン遊離、血小板凝集などのほか、スーパーオキシド、一重項酸素、ヒドロキシラジカル等の活性酸素が原因となって発症する。

【0003】ヒスタミン遊離は、I型アレルギー反応に伴って肥満細胞内のヒスタミンが細胞外に遊離する現象で、遊離されたヒスタミンがアレルギー症状の起炎物質となる。このヒスタミンの遊離を阻害することによりアレルギー症の一部を抑制するのに有効な物質としては、トラニラスト、クロモグリク酸ナトリウム、バイカリン、バイカレイン、塩酸プロメタジン等がある。しかしながら、これらの物質は必ずといってよいほど副作用があり、一般的な皮膚化粧料に配合するには安全性の点で問題があった。

【0004】血小板凝集はアラキドン酸カスケードのホスホリパーゼA<sub>2</sub>の活性化を招き、それによりロイコトリエンBやプロスタグランジンE<sub>2</sub>等が放出されて起炎物質となる。

【0005】活性酸素は、体内で過剰に産生されたり分解酵素・SODによる消去が不十分であったりして濃度が高くなると、アレルギー性炎症を生じさせるだけでなく、様々な組織障害の原因となる。皮膚は紫外線など環境因子の刺激を直接受けるため活性酸素が発生しやすい器官であるから、しばしば活性酸素濃度が上昇し、過酸化脂質が生成してシミ、ソバカス、小ジワを増やす。

【0006】そこで、上述の障害を回避するため、活性酸素の濃度が過大になるのを防ぐのに有効な活性酸素消去性物質を皮膚化粧料に配合すること、および、そのた

めの活性酸素消去性物質を安全性の点で有利な天然物から得る試みがなされ、その結果、ウワミズザクラのアルヌソールA、ユーカリ等のエラグ酸、大麦、黒米、黒インゲン等の穀類のフラボノイド類、茶のカテキン、ゴマのセサミン類、セージ、ローズマリー等のハーブ類に含まれるカルノソールやロズマノール等の有効性が確認されている。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、抗アレルギー作用と活性酸素消去作用を有し皮膚化粧料構成成分としての適性も備えた物質を植物体から見だし、抗アレルギー剤および活性酸素消去剤として提供することにある。

【0008】本発明の他の目的は、安全性の高い天然物系の抗アレルギー作用物質および活性酸素消去作用物質を配合することにより抗炎症作用および皮膚保護作用を強化した皮膚化粧料を提供することにある。

## 【0009】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成することに成功した本発明は、メタノール、エタノール、1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコール等の親水性有機溶媒、水、またはこれらの混合物を抽出溶媒とする抽出によりバーベリー樹皮より得られる抽出物を有効成分とする抗アレルギー剤および活性酸素消去剤、ならびにこれらを配合することにより抗炎症作用および皮膚保護作用を強化したことを特徴とする皮膚化粧料を提供するものである。

## 【0010】

【発明の実施の形態】バーベリー(Mahonia nepalaulensis)は主に中央アジアの亜高山帯に生育するメギ科の植物であって、その樹皮は神経痛の治療に有効とされているが、その場合の有効成分や薬理作用の詳細は解明されていない。バーベリー樹皮に抗アレルギー作用や活性酸素消去作用を有する物質が含まれていることも、もちろん知られていなかった。

【0011】バーベリー樹皮に含まれていて抗アレルギー作用や活性酸素消去作用を示す物質は、水溶性であり、また多くの化粧料に配合しても安定であり、さらに経皮的に人体内部によく吸収される性質のものである。しかも、皮膚に塗布しても皮膚を刺激したり炎症を起こさせたりすることがない。したがって、皮膚化粧料に配合してその有用作用を活用するのにきわめて好都合な性質を備えている。

【0012】バーベリー樹皮から上記有用作用を示す物質を抽出するには各種の親水性有機溶媒、水、またはこれらの混合物を使用することができるが、特に好ましい抽出溶媒はメタノール、エタノール、イソプロパノール、ブタノール等、炭素数1~4の脂肪族アルコール；1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリン等の多価アルコール；アセトン、メチルエチ

ルケトン等の低級脂肪酸ケトン；水；またはこれらの混合物である。

【0013】抽出条件および抽出に用いる装置は特に限定されないが、好適には重量比で5～15倍量の抽出溶媒にバーベリー樹皮の粉碎物を浸漬し、常温ないし100℃程度の加熱下にゆるやかに攪拌しながら可溶性成分を溶出させる。逡過または遠心分離して得られた抽出液から溶媒を留去するとペースト状の濃縮物が得られ、さらに乾燥すれば約3～10数%の収率で淡褐色の抽出物が得られるが、抗アレルギー剤または（および）活性酸素消去剤として利用するバーベリー樹皮抽出物は固形の抽出物である必要はなく、上記抽出液またはその濃縮液の状態のものであってもよい。また、その有用作用を損なわない限り、活性炭処理、吸着樹脂処理、イオン交換樹脂処理、液-液向流分配等の方法により精製してから用いてもよい。

【0014】製剤化する場合、上述の抽出物またはその精製物を、必要に応じて任意の助剤と混合して、錠剤、散剤、液剤等、任意の剤形のものとする。

【0015】本発明による抗アレルギー剤および活性酸素消去剤を配合した皮膚化粧品を製造するのに特別の配慮は不要であって、化粧品製造に通常使用される原料を常法により処理して乳液、ローション、クリーム、ゼリー、パック等各種形態の化粧品を製造する工程の任意の段階でこれを添加すればよい。

【0016】皮膚化粧品に対する好適配合率は、皮膚化粧品の種類によっても異なるが、標準的なバーベリー樹皮抽出物としておおむね0.001～10重量%（特に好ましくは0.05～2重量%）である。

【0017】添加対象となる皮膚化粧料の基本的な構成成分の選択が制限されることはなく、たとえばアボガド油、コメヌカ油、コメ胚芽油、ラノリン、蜜ロウ、スクワラン、ワセリン、流動パラフィン等の油性成分；グリセリン、1,3-ブチレングリコール、コラーゲン、ヒアルロン酸およびその塩、コンドロイチン硫酸およびその塩、キトサン、キチン等の保湿剤；グリセロリン脂質、スフィンゴ脂質、グリセロ糖脂質、スフィンゴ糖脂質等の複合脂質；SOD、カタラーゼ、β-カロテン、イチョウ葉抽出物、ビタミンCおよびその誘導体、ビタミンEおよびその誘導体、オウゴン抽出物、クジン抽出物等の活性酸素消去作用物質；グアイアズレン、カマアズレンおよびその誘導体；グリチルリチン酸、グリチルレチン酸およびその塩、グリチルレチン酸誘導体、酸化亜鉛等の抗炎症剤；その他各種植物抽出物、増粘剤、防腐剤、紫外線吸収剤、香料、酸化防止剤、水、アルコール等、皮膚化粧品製造に通常使用される成分を任意に使用することができる。

【0018】

【実施例】バーベリー樹皮抽出例

乾燥したバーベリー樹皮の粗碎物500gを抽出溶媒3000mlに投入し、70℃に加熱しながら2時間攪拌する。その後、逡過して得られた抽出液を減圧下に濃縮し、さらに減圧乾燥機で乾燥して抽出物を得る。抽出溶媒を種々変更して上記抽出を行なった場合の抽出物収率は表1のとおりであった。

【0019】

【表1】

	抽出溶媒	抽出物収率（重量%）
抽出例1	水	14.7
抽出例2	80%エタノール	5.7
抽出例3	エタノール	4.3
抽出例4	1,3-ブチレングリコール	3.7
抽出例5	50%ブチレングリコール	7.8

【0020】試験例1

上記各抽出例で得られたバーベリー樹皮抽出物について、スーパーオキシド消去作用、一重項酸素消去作用、およびDPPH（ジフェニルピクリルヒドロラジカル）に対するラジカル消去作用を試験した。試験法は次のとおりである。

【0021】スーパーオキシド消去作用（NBT法）：3mMキサンチン、0.05MNa<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>緩衝液（pH10.2）、3mMEDTA、BSA溶液および0.75mMNBT0.1mlを試験管にとり、これに試料溶液0.1mlを添加し、25℃で10分間放置する。次いでキサンチンオキシダーゼ溶液を加えて素早く攪拌し、25℃で20分間静置する。その後6mM塩化銅を加えて反応を停止させ、560nmにお

ける吸光度を測定する。同様の操作と吸光度測定を、酵素溶液を添加せずに行う。さらに、試料溶液を添加せずに蒸留水を添加した場合についても同様の測定を行い、次式によりスーパーオキシド消去率を求める。

$$\text{【0022】消去率（\%）} = \left[ 1 - \frac{(St - So)}{(Bt - Bo)} \right] \times 100$$

但し

St：試料溶液添加、酵素溶液添加時の吸光度

So：試料溶液添加、酵素溶液無添加時の吸光度

Bt：試料溶液無添加、酵素溶液添加時の吸光度

Bo：試料溶液無添加、酵素溶液無添加時の吸光度

【0023】試料溶液の試料濃度を段階的に変更して上記抑制率の測定を行い、活性酸素産生の抑制率が50%になる試料溶液の濃度を内挿法により求める。

【0024】一重項酸素消去作用：透明ガラス瓶（10 ml 容）中で2%赤血球懸濁液5 ml、試料を所定濃度で含むpH7.4の等張リン酸緩衝液5 ml、および光増感剤（10 mMヘマトポルフィリン-20 mM水酸化ナトリウム溶液）0.01 mlを混合する。得られた溶液をメリーゴーランド上、7.5 Wハロゲンランプで35分間均一に照射して $^1\text{O}_2$ を発生させ、赤血球の溶血を生じさせる。この反応溶液1 mlを採取し、等張リン酸緩衝液2 mlを加えて混合後、4℃で3000 rpm・5分間の遠心分離を行う。次いで上清を採取し、波長540 nmの吸光度を測定する。別に、赤血球を一部溶血させた上記反応溶液1 mlをとり、これに蒸留水2 mlを加えて完全に溶血させたものを対照液とし、同様に吸光度測定を行う。測定された吸光度より次式により一重項酸素消去率を求める。

$$\text{一重項酸素消去率}(\%) = (1 - B/A) \times 100$$

但し A：対照液の吸光度

B：反応溶液上清の吸光度

【0025】試料溶液の試料濃度を段階的に変更して上記消去率の測定を行い、一重項酸素の消去率が50%になる試料溶液の濃度を内挿法により求める。

【0026】DPPHに対するラジカル消去作用：1.

50%消去濃度 (ppm)

抽出物	スーパーオキシドの消去	一重項酸素の消去	ラジカルの消去
抽出例1	15.6	118.6	60.9
抽出例2	12.3	122.4	54.7
抽出例3	20.5	160.0	80.5
抽出例4	25.5	170.8	95.6

抽出例5 19.6

【0031】試験例2

前記抽出例1～5による各抽出物について下記の方法によりヒスタミン遊離抑制作用を調べた（細胞内のヒスタミンが遊離されると同時にヘキソサミニダーゼも遊離されることから、ヘキソサミニダーゼ遊離を指標にヒスタミン遊離抑制作用を評価する方法である。）。

【0032】試験法：25 mlのフラスコに入れた15%FBS添加MEM培地にRBL-2H3細胞 $1.0 \times 10^6$ 個を播種し、5%CO<sub>2</sub>下、37℃で4日間培養する。その後トリプシン処理および遠心処理（1000 rpm, 2分間）を行なって細胞を沈殿物として得る。これを上記培地と同じ培地に $4.0 \times 10^5$  cell/ml懸濁させ、そこにマウスモノクローナル抗ジニトロフェニル基IgE（DNP-specific IgE）を5  $\mu$ l添加し、濃度を0.5  $\mu$ g/mlとする。得られた細胞浮遊液を96穴プレートに80  $\mu$ l播種し、5%CO<sub>2</sub>下37℃で24時間培養する。培養終了

5  $\times 10^{-4}$  MDPHメタノール溶液3 mlに試料溶液3 mlを加え、直ちに容器を密栓して振り混ぜ、30分間静置する。その後、520 nmの吸光度を測定する。対照試験として、試料溶液の代わりにその溶媒を用いて同様に操作し、520 nmの吸光度を測定する。また、空試験として、メタノールに試料溶液3 mlを加えたのち直ちに520 nmの吸光度を測定する。測定された各吸光度より、次式によりラジカル消去率を算出する。

【0027】

$$\text{消去率}(\%) = [1 - (B - C)/A] \times 100$$

但し

A：対照試験の吸光度

B：試料溶液を添加した場合の吸光度

C：空試験の吸光度

【0028】試料溶液の試料濃度を段階的に変更して上記消去率の測定を行い、DPPHラジカルの消去率が50%になる試料溶液の濃度を内挿法により求める。

【0029】試験結果を表2に示す。

【0030】

【表2】

154.5 65.3

後、各穴中の培地を除去し、シリガリアン緩衝液で洗浄する。次に上記緩衝液30  $\mu$ lおよび試料溶液10  $\mu$ lを加え、37℃で10分間インキュベートする。次にジニトロフェニル化ウシ血清アルブミン（DNP-BSA）10  $\mu$ lを加え、さらに37℃で15分間インキュベートする。その後、氷冷下で上清液10  $\mu$ lを新たな96穴プレートに移し替え、これに1 mM p-ニトロフェニル-N-アセチル- $\beta$ -D-グルコサミド溶液10  $\mu$ lを加え、37℃で1時間インキュベートする。反応終了後、0.1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>・NaHCO<sub>3</sub>溶液250  $\mu$ lを加え、マイクロプレートリーダーにて415 nmにおける吸光度Aを測定する。試料溶液を添加しない細胞浮遊液についても同様の処理と吸光度測定を行う（このとき測定される吸光度をBとする）。また、細胞浮遊液のかわりに上記緩衝液を用いて同様の処理と吸光度測定を行う（このとき測定される吸光度をCとする）。そして、次式によりヘキソサミニダーゼ遊離抑制

率を算出する。

$$\text{ヘキサミニダーゼ遊離抑制率 (\%)} = [1 - (A - C) / (B - C)] \times 100$$

【0033】試料溶液の濃度を段階的に変更して上記方法により抑制率を測定し、抑制率が50%になる試料溶

抽出例5 19.6

抽出物 50%抑制濃度 (ppm)

抽出例1 201.5

抽出例2 195.0

抽出例3 205.5

抽出例4 198.5

抽出例5 200.5

【0035】試験例3

前記抽出例1～5による各抽出物について、下記の方法で血小板凝集抑制作用を試験した。

【0036】試験法：日本種白色家兎の血液に77mM EDTAを1/10量添加し、1000rpmで10分間遠心分離して沈殿物を除く。上清を2100rpmで10分間遠心分離し、沈殿した血小板を採取する。得られた血小板を血小板洗浄液に浮遊させ、2100rpmで10分間遠心分離する。沈殿した血小板を採取し、血小板数が30万個/μlになるように血小板浮遊液に浮遊させる。上述のようにして調製した洗浄血小板浮遊液223μlに塩化カルシウム溶液1μlを加え、37℃に1分間保持する。そこに試料溶液1μlを加えてさらに2分間同温度に保持した後、1分間攪拌する。次いでコラーゲン溶液を25μl添加し、37℃に10分間保持した後、可視光線透過率Aを測定して、血小板凝集状態の指標とする。別に、試料溶液を添加しないほかは上記と同様に操作して可視光線透過率Bを測定し、次式により血小板凝集抑制率を求める。

ステアリン酸

2部

スクワラン

2部

オリーブ油

2部

セタノール

7部

ホホバ油

2部

ポリオキシエチレン(40EO)硬化ひまし油

1部

グリセリン

10部

バーベリー樹皮抽出物

3部

精製水

残部(全量を100部とする)

【0041】実施例2

抽出例2によるバーベリー樹皮80%エタノール抽出物を配合した下記組成の化粧水を、化粧水製造の常法によ

グリセリン

3部

1,3-ブチレングリコール

3部

オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(20EO)

3部

パラオキシ安息香酸メチル

0.5部

クエン酸

0.1部

クエン酸ソーダ

1部

香料

0.05部

液の濃度を内挿法により求める。試験結果は表3のとおりであった。

【0034】

【表3】

154.5

65.3

【0037】

血小板凝集抑制率 (%) = [(B-A)/B] × 100  
試料溶液の濃度を段階的に変更して上記血小板凝集抑制率を測定し、抑制率が50%になる濃度を内挿法により求める。試験結果は表4のとおりであった。

【0038】

【表4】

実施例2の乳液使用群

	使用開始前	3ヵ月後
肌の潤いがよい	0名	10名
肌にシミ・クスマがある	9名	2名
シワの皮溝が深い	10名	3名

抽出物 50%抑制濃度 (ppm)

抽出例1 80.5

抽出例2 87.5

抽出例3 95.0

抽出例4 100.5

抽出例5 98.5

【0039】実施例1

抽出例1のバーベリー樹皮水抽出物を配合した下記組成の乳液を乳液製造の常法に従い製造した(「部」は重量部を意味する。以下の各例において同じ。)

【0040】

り製造した。

【0042】

バーベリー樹皮抽出物  
精製水  
【0043】実施例3  
抽出例5によるバーベリー樹皮1, 3-ブチレングリコ  
ール抽出物を配合した下記組成のクリームを、クリーム

流動パラフィン 5部  
サラシミツロウ 4部  
セタノール 3部  
スクワラン 10部  
ラノリン 2部  
ステアリン酸 1部  
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(20EO) 3部  
モノステアリン酸グリセリル 3部  
1, 3-ブチレングリコール 5部  
パラオキシ安息香酸メチル 0.5部  
香料 0.05部  
バーベリー樹皮抽出物 3部  
精製水 残部(全量を100部とする)

3部  
残部(全量を100部とする)  
製造の常法により製造した。  
【0044】

【0045】試験例4  
実施例2の乳液について、下記の塗布試験を行なった。  
試験法：肌荒れ状態の女性10名(年齢29~48歳)  
からなる被験者群2群の一方に実施例2の乳液を、他方  
にはバーベリー樹皮抽出物を含まないほかは実施例2と  
同じ組成の比較例乳液を、それぞれ1日2回、朝夕に、  
3カ月間、顔面頬部に塗布させる。

【0046】使用開始前と使用3カ月後の肌の状態につ  
いて各被験者に感想を述べさせた結果は表5, 6のとおり  
で、バーベリー樹皮抽出物を含有させることにより乳  
液の使用効果が顕著に向上することが確認された。

【0047】

【表4】

実施例2の乳液使用群

	使用開始前	3カ月後
肌の潤いがよい	0名	10名
肌にシミ・クスマがある	9名	2名
シワの皮溝が深い	10名	3名

【0048】

【表5】

比較例乳液使用群

	使用開始前	3カ月後
肌の潤いがよい	0名	0名
肌にシミ・クスマがある	9名	7名
シワの皮溝が深い	9名	8名

フロントページの続き

(51)Int. Cl. 7

識別記号

F 1

テマート(参考)

A 6 1 P 37/08  
39/06

A 6 1 K 31/00

6 3 7 E

6 3 9 C

(72)発明者 山本 進

広島県尾道市向東町14703-10丸善製薬株  
式会社内

Fターム(参考) 4C083 AA082 AA111 AA112 AA122  
AC022 AC072 AC122 AC242  
AC302 AC422 AC432 AC442  
AC482 AD512 BB51 CC04  
CC05 DD23 DD27 DD31 EE06  
EE12 EE16  
4C088 AB63 AC06 BA08 BA09 BA10  
MA63 NA14 ZA89 ZB13 ZC21